

学位授与番号：甲 1073 号

氏 名：平田 幸広

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 30 年 3 月 28 日

学位論文名：

MicroRNA-21 is a candidate driver gene for 17q23-25 amplification in ovarian clear cell carcinoma.

（MicroRNA-21 は卵巣明細胞癌の 17q23-25 増幅における候補ドライバー遺伝子である。）

学位論文審査委員長：教授 大橋十也

学位論文審査委員：教授 吉田清嗣 教授 矢永勝彦

論文要旨

氏名	平田 幸広	指導教授名	岡本 愛光
----	-------	-------	-------

主論文

MicroRNA-21 is a candidate driver gene for 17q23-25 amplification in ovarian clear cell carcinoma. (MicroRNA-21 は卵巣明細胞癌の 17q23-25 増幅における候補ドライバー遺伝子である.)

Yukihiro Hirata, Noriyuki Murai, Nozomu Yanaiharu, Misato Saito,

Motoaki Saito, Mitsuyoshi Urashima,

Yasuko Murakami, Senya Matsufuji, Aikou Okamoto

BMC Cancer. 2014;14:799-809

要旨

【背景、目的】

卵巣明細胞癌 (CCC) は、上皮性卵巣癌の約 5-20 %を占め、他の組織型と比較し予後不良など多くの臨床的特徴を持っている。しかしながら、CCC 発癌の分子生物学的な機序の解明は、未だに不十分である。CCC の 17q23-25 領域の増幅頻度は、非常に高く約 40%程度と報告されており、この領域における新たなドライバー遺伝子が存在する可能性が示唆される。そこで我々は、CCC において染色体 17q23-25 上にある microRNA-21 に着目し、miR-21 が CCC の発癌において重要な役割を果たしているとは仮説を立て解析を行った。

【方法】

臨床検体を用いた解析では、同一患者から得られた 28 例の臨床検体の DNA、RNA、蛋白質をそれぞれ使用した。Array comparative genomic hybridization により 17q23-25 領域のコピー数変化、Realtime-RT PCR により miR-21 及び PPM1D mRNA 発現、免疫組織化学にて PTEN 蛋白質の発現解析を行った。細胞株を用いた解析では 5 種の CCC 細胞株を使用し、17q23-25 領域のコピー数変化、miR-21 及び PTEN mRNA 蛋白質の発現を確認した。また miR-21 の強制発現、減弱によるターゲット遺伝子の発現変化及び機能解析を行った。

【結果】

臨床検体を用いた解析では、17q23-25 領域の増幅を認め、更に miR-21 過剰発現及び PTEN 蛋白質発現の低下を認めた症例は約 14%であった。次に 17q23-25 領域の増幅、miR-21 過剰発現及び PTEN 蛋白質発現の低下と予後との関連性について解析を行った。17q23-25 領域の増幅の有無は無増悪生存期間、全生存期間のいずれにおいても有意な差を認めた。臨床病理学的因子と 17q23-25 領域の増幅、miR-21 過剰発現、PTEN 蛋白質発現の低下との関連性について解析を行い、miR-21 過剰発現と子宮内膜症の有無に有意な相関を認めた。CCC 細胞株を用いた解析では、RMG-II 細胞を用いて miR-21 のノックダウンを行い、PTEN mRNA および蛋白質発現の亢進を認めた。ルシフェラーゼアッセイを用いて、miR-21 が PTEN mRNA の 3'UTR に直接結合することを確認した。

【結語】

miR-21 は CCC において 17q23-25 領域の PPM1D 以外の新たな候補ドライバー遺伝子の可能性が示唆された。17q23-25 領域の染色体増幅が miR-21 の異常発現を来し、PTEN 発現調節を介して CCC の発癌に重要な役割を果たしている可能性があると思われた。

学位論文審査結果の要旨

平田 幸広氏の学位申請論文は主論文 1 編からなり、主論文のタイトルは「MicroRNA-21 is a candidate driver gene for 17q23-25 amplification in ovarian clear cell carcinoma.」、日本語では「MicroRNA-21 は卵巣明細胞癌の 17q23-25 増幅における候補ドライバー遺伝子である」と題され、2014 年に BMC Cancer 誌に発表された。同誌のインパクトファクターは 2014 年で 3.362 である。

平成 30 年 3 月 12 日、吉田清嗣、矢永勝彦両審査委員御出席のもとに公開学位審査会を開催し、平田氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施した。試験では以下のような質問があった。

1. miR21 がイントロン内に存在する TMEM49 とはどんな遺伝子か？
2. miR21 をノックアウトした方法は何か？アンチセンスオリゴか？
3. miR21 は標的 mRNA の分解にも関わっているのか？
4. PTEN の発現レベルと miR21 の発現レベルに相関がないようだが、何故か？
5. 盲検化して病理を評価しているが病理医を含めなくて問題ないか？
6. 今回の結果より miR21 が強いドライバー遺伝子であるというのはいすぎではないか？
7. 子宮内膜症と発癌の関係はなにか？
8. ステージ II,II,IV の予後の差がないが、追加治療によるものか？
9. 子宮内膜症合併例と非合併例では発癌のメカニズムが異なるのか？
10. miR21 の過剰発現で PTEN が低下しない原因は何か？
11. 17q23-25 に載っている遺伝子で発癌に関与する他の遺伝子は検討したか？

上記質問に対して平田氏は適切に回答した。その後、吉田、矢永両教授と慎重に審議した結果、今回の研究は、卵巣明細胞癌の新たな治療ターゲットを明にしたものであり、今後同疾患の治療開発にも結びつく研究であり、学位論文として十分にその価値が認められると結論した。